UOT: 634.11

AZƏRBAYCANIN MÜXTƏLİF BÖLGƏLƏRİNDƏ YAYILMIŞ YERLİ ALMA SORT VƏ YABANI FORMALARININ MOLEKULYAR-GENETİK TƏDQİQİ

A.Ə.ƏLİYEVA
AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutu

Məqalədə ilk dəfə olaraq DNT markerləri əsasında Azərbaycanın müxtəlif bölgələrində yayılmış yerli alma sortları və yabanı formalarının mövcud genetik müxtəlifliyinin – polimorfizminin qiymətləndirilməsi aparılmışdır. ISSR markerlərindən istifadə etməklə 45 alma genotipinin genetik müxtəlifliyi tədqiq edilmişdir. Öyrənilən genotiplərdə 5 praymer üzrə 30-u polimorf olmaqla, ümumilikdə, 39 bənd sintez olunmuşdur.

Açar sözlər: *alma, genetik müxtəliflik, ISSR marker*

Alma cinsinə daxil olan növlər morfoloji əlamətlərinə görə müxtəlif olub, dünyanın bir sıra ölkələrində becərilir və yabanı halındakı massivləri geniş əraziləri tutur. Bu cinsin müxtəlif qruplarına aid edilən növləri bitdiyi ərazilərdə mürəkkəb ekotip sistemləri, formaları və variasiyaları yarada bilirlər. Onun taksonlarının genetik təbiəti məhdud fenotipik əlamətlərə və fizioloji xassələrə əsasən tədqiq edilir. Məhz buna görə meyvə bitkilərində olduğu kimi, alma bitkisinin növlərinin mənşəi haqqında tam məlumat yox dərəcəsindədir. Bəzi botanik-sistematik alimlərin mülahizələrinə görə, *Malus* cinsinə daxil edilən qrupların sayı azaldılmalıdır [3, 4]. Buna səbəb kimi onlar əvvələr növ kimi təsvir edilmişlərin əslində növmüxtəlifliyi olduğu sübuta yetirilir. Malus cinsinə daxil olan növlərə yenidən baxış zamanı onların dəqiqliklə qruplaşdırılması nəticəsində bu cinsin imkanlarının daha geniş olması sübuta yetirilir və seleksiyada onların istifadəsi asanlıqla mümkün ola bilir. Respublikamızın ərazisində yayılmış, morfoloji əlamətlərinə görə bir-birindən fərqlənən, ətraf mühitin əlverişsiz əlamətlərinə davamlı yabanı alma formaları, həmçinin uzunmüddətli saxlanmaya davamlı və yüksəkkeyfiyyətli qədim yerli alma sortları qiymətli genetik dəyişkənliyin əsas mənbəyi kimi artırılmalı və qorunub saxlanılmalıdır. Mövcud genetik müxtəlifliyin qorunub saxlanılması və gələcəkdə effektili istifadəsi üçün, ilkin olaraq, onların qiymətləndirilməsi və yayılma arelının təyini, identifikasiyası, həmçinin respublikamızda ilk dəfə olaraq PZR əsaslı ISSR markerlərdən istifadə etməklə, alma genotipləri arasında genetik müxtəlifliyin təyini tədqiqat işinin əsas məqsədidir.

Tədqiqiatın material və metodikası

Tədqiqat materialı olan 45 alma nümunəsindən 20-si Quba-Xaşmaz bölgəsindən, 2-si İsmayıllı rayonundan və 23-ü Şəki-Zaqatala bölgəsindən götürülmüşdür (cədvəl 1).

Cədvəl 1.

Tədqiqatda istifadə olunmuş alma genotipləri

N	Nümunələrin adı	Götürüldüyü yer	N	Nümunələrin adı	Götürüldüyü yer
1	Cənnət alması	Quba-Xaçmaz	23	Göy alma	Şəki-Zaqatala
2	Şıxıcanı	Quba-Xaçmaz	24	Novruz alma	Şəki-Zaqatala
3	Neftçilərə hədiyyə	Quba-Xaçmaz	25	Konfet	Şəki-Zaqatala
4	Cır Hacı	Quba-Xaçmaz	26	Yaylıq alma	Şəki-Zaqatala
5	Qızıl Əhmədi	Quba-Xaçmaz	27	Pişik baş	Şəki-Zaqatala
6	Azərbaycan gözəli	Quba-Xaçmaz	28	Bal alma	Şəki-Zaqatala
7	Qara turş	Quba-Xaçmaz	29	Qızıl Əhmədi (Şəki)	Şəki-Zaqatala
8	Nöyüt alma	Quba-Xaçmaz	30	Daş alma	Şəki-Zaqatala
9	Sarı alma	Quba-Xaçmaz	31	Yaqub alma	Şəki-Zaqatala
10	Eyyubi	Quba-Xaçmaz	32	Uzun sünni sinap	Şəki-Zaqatala
11	Əkbəri	Quba-Xaçmaz	33	Qarın tox	Şəki-Zaqatala
12	Ağ çiçək (yabanı)	Quba-Xaçmaz	34	Quş göz	Şəki-Zaqatala
13	Yaşıl alma	Quba-Xaçmaz	35	Həbəşi alma	Şəki-Zaqatala
14	Nur alma	Quba-Xaçmaz	36	Papaq alma	Şəki-Zaqatala
15	Əlvan turş	Quba-Xaçmaz	37	Şirvan	Şəki-Zaqatala
16	Qırmızı çiçək (yabanı)	Quba-Xaçmaz	38	Şör	Şəki-Zaqatala
17	Mehdi cırı	Quba-Xaçmaz	39	Muğal	Şəki-Zaqatala
18	Ağ alma	Quba-Xaçmaz	40	Nənəm alma	Şəki-Zaqatala
19	Qırmızı zolaq	Quba-Xaçmaz	41	Qış şafranı	Şəki-Zaqatala
20	Qoz görən	Quba-Xaçmaz	42	Amil	Şəki-Zaqatala
21	Əlibəyli	İsmayıllı	43	Zaqatala şafranı	Şəki-Zaqatala
22	Ismayıllı (yabanı)	İsmayıllı	44	Daş dəmir	Şəki-Zaqatala
			45	Mürəbbə alma	Şəki-Zaqatala

Nümunələrdən Rocersin təklif etdiyi (1985) CTAB (setiltrimetilammonium bromid) protokolu əsasında DNT ekstraksiya edilmiş (Rogers and Bendich, 1985) [5], Nanodrop vasitəsilə (Thermo Scientific, 2000)qatılığı və keyfiyyəti təyin olunduqdan sonra PZR reaksiyasının aparılması üçün 50 nq/µl qatılığa qədər durulaşdırılmışdır. PZR reaksiyası 2µl 10x PZR buferi, 1 µl 50 mM $MgCl_2$, 1 µl 10 mM dNTP, 2 µl 10 µM praymer, 0.1 µl5U/µl Taq polimeraza və 2 µl 50 nq/µl DNT-dən ibarət olmaqla, ümumilikdə 20 µl təşkil etmişdir.

PZR metodu ilə sintez olunmuş lokusların uzunluğu və hər bir lokusa görə allellərin sayı müəyyən edildikdən sonra binar nömrələmədən istifadə olunaraq, hər hansı bir allelin nümunədə olması “1”,

olmaması "0" kimi qeyd olunmuşdur. Hər lokusdakı allellərin sayı (*i*), allellərin rastgəlmə tezliyi (*Pi*) hesablanmışdır. Polimorfizm polimorf allellərin sayını ümumi allellərin sayına bölməklə hesablanmışdır. Genetik müxtəliflik əmsalı (GM) Weyr düsturu (formul 1) əsasında hesablanmışdır [6]:

$$\mathrm{GM} = 1 - \sum_i^n p_i^2 \qquad \text{(formul 1)}$$

burada p_i- i-ci allelin rastgəlmə tezliyidir.

Tədqiqat işi AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun Biotexnologiya şöbəsində aparılmışdır.

Tədqiqatın nəticələri və müzakirəsi

Uzun illərdir ki Azərbaycanda alma sortlarının identifikasiyası onların morfoloji əlamətlərinə və meyvələrinin tərkibinə görə müəyyənləşdirilirdi. Lakin bu göstəricilər müasir elmin tələblərinə tam cavab vermir. Respublikamızda almanın molekulyar metodlarla identifikasiyası bu günə qədər öyrənilməmişdir. Bizim tərəfimizdən Azərbaycanda yayılmış yabanı alma formalarının və yerli sortların morfoloji metodlarla identifikasiyası həyata keçirilmiş və onların molekulyar-genetik metodlarla identifikasiyası aparılmışdır. Bu məqsədlə, alma genotipləri üçün 10 PZR əsaslı ISSR markeri ilə PZR reaksiyası qoyulmuş, bununla da 5 praymer üzrə tam monomorfluq müşahidə edilmiş və bu səbəbdən analizlər yalnız polimorf və aydın bəndlər verən digər 5 ISSR (cədvəl 2) praymeri ilə davam etdirilmişdir.

Öyrənilən alma genotiplərində 5 praymer üzrə ümumilikdə 39 bənd (cədvəl 2) sintez olunmuşdur ki, bunlardan 30-u (73,34%) polimorf, 9-u (26,66%) isə monomorf olmuşdur. Loksa amplifikasiya olunmuş fraqmentlərin sayı 6-11 arasında dəyişmişdir. Alınmış fraqmenrlərin uzunluq diapazonu 100-2000 n.c. arasında dəyişir. Hər praymerə düşən bənd sayı 7,8 ədəd təşkil etmiş.

Cədvəl 2

ISSR praymerləri ilə alma genotiplərində təyin olunmuş polimorfizm və genetik müxtəliflik ölçüləri

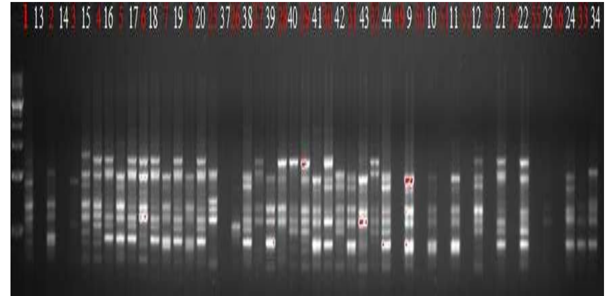
Praymer adı	Pray-mer ardıcıllığı, 5`-3`	Sintez olunmuş bəndlərin sayı	Polimorf bəndlərin sayı	Polimorfizm %	Genetik müxtəliflik əmsalı
UBC 812	$(GA)_8$ A	8	6	75	0.85
UBC 823	$(TC)_8C$	6	4	66,7	0.64
UBC 855	$(AC)_8YT$	11	11	100	0.89
UBC 868	$(AG)_8YT$	6	3	50	0,50
IS 15	$(GA)_8CG$	8	6	75	0.78
Ümumi		39	30		
Orta		7,8	6,0	73,34	0.73

Ən çox amplikon sayı (11 ədəd) UBC 855 praymeri ilə sintez edilmiş, bunlardan hamısı yəni, 11-i də polimorf olmuşdur. Ən az amplikon sayı isə UBC 868 və UBC 823 praymerlərində (6 amplikon) qeydə alınmışdır ki, bunlardan 3-ü polimorfdur. Polimorf bəndlərin sayı 3-11 arasında dəyişmiş, orta hesabla 6,0 ədəd təşkil edir.

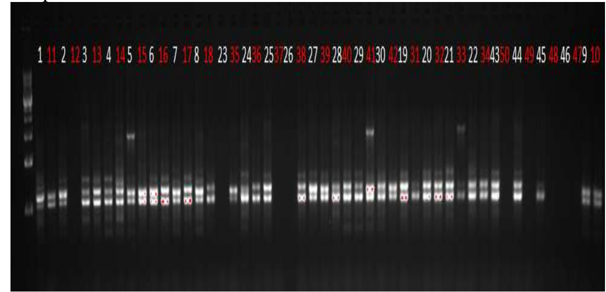
Cədvəl 2-dən göründüyü kimi, praymerlər üzrə polimorfizm göstəriciləri 50-100 % arasında dəyişir, orta polimorfizm 73, 34 % təşkil edir.

UBC 855 ISSR praymeri alma genotiplərində ən yüksək polimorfluq göstərmiş, qeydə alınan 11 amplikondan 11-də polimorf olmuşdur və burada polimorfizm 100 % təşkil edir. Amplikonların uzunluğu 100-400 n.c. arasında dəyişmişdir (Şək.1). Bu praymerlə 15 patern (bəndlərin kombinasiyası) əldə edilmişdir və bunlardan 7-si unikal patern olmuşdur.Unikal bənd bir nümunədə yəni 15 №-li (Əkbəri) genotipdə ~ 400 nc müəyyən edilmişdir.

IS 15 praymeri ilə sintez olunmuş ümumi bəndlərin sayı 8, polimorf bəndlərin sayı isə 6 olmuşdur. Fraqmentlərin uzunluğu 100-500 n.c. arasında dəyişmişdir. Bu praymerlə 9 fərqli patern əldə edilmişdir. Bunlardan 2-si unikal və 2-si nadir patern olmuşdur. Unikal bənd – 5 nümunədə ~ 400 n.c.və 3 nümunədə ~ 420 n.c. nadir allelə rast gəlinir (Şək. 2).



Şəkil 1. UBC 855 ISSR praymeri ilə sintez olunmuş DNT fraqmentləri



Şəkil 2. IS 15 ISSR praymeri ilə sintez olunmuş DNT fraqmentləri

UBC 812 ilə qeydə alınan 8 amplikondan 6-sı polimorf olmuşdur. Polimorfizm 75 % olmuşdur. Fraqmentlərin uzunluğu 400-1500 n.c. arasında dəyişmişdir. Bu praymerlə 6 fərqli patern əldə edilmişdir. Unikal bənd və patern müəyyən edilməmişdir.

UBC 823 praymeri ilə sintez olunmuş 6 amplikondan 4-ü polimorf olmuşdur. Polimorfizm 66,7 % olmuşdur. Fraqmentlərin uzunluğu 600-2000 n.c. arasında dəyişmişdir. Bu praymerlə 3 fərqli

patern əldə edilmişdir. Unikal bənd və patern müəyyən edilməmişdir.

UBC 868 praymeri ilə sintez olunmuş 6 amplikondan 3-ü polimorf olmuşdur. Polimorfizm 50 % olmuşdur. Fraqmentlərin uzunluğu 400-1500 n.c. arasında dəyişmişdir. Bu praymerlə 3 fərqli patern əldə edilmişdir. 4 №-li genotipdə (Cır Hacı) unikal patern müəyyən edilmişdir. Unikal bənd müəyyən edilməmişdir.

Müqayisə üçün digər tədqiqatlara baxsaq, Aydın Uzun və əməkdaşları [1] Türkiyədə yayılmış 158 alma bitkisinin genetik müxtəlifliyinin öyrənilməsi məqsədi ilə 15 ISSR markerdən istifadə etmişlər ki, təcrübə nəticəsində 111 fraqment sintez olunmuş, bunlardan 76-sı polimorf olmuşdur. Polimorfizmin faizi 25-100 % arasında dəyişmişdir. Ən yüksək polimorfliyi $(CAA)_6$ praymeri göstərmişdir. Ş. Fazeli və əməkdaşları İranda becərilən 25 alma genotipindən 10 ISSR markeri ilə ümumilikdə 123 bənd sintez etmiş. Bunlardan 105 bənd polimorf, digər 8 bənd monomorf olmuşdur. Polimorfizmin faizi 85 %-dir. Genetik oxşarlıq indeksi 0,31- 0,70 arasında dəyişmişdir [2].

Hər bir ISSR praymeri üçün polimorfluq ortalama olaraq 6.0 olmuşdur. Alma genotipləri üzərində apardığımız tədqiqatda, həmçinin hər bir ISSR lokusu üçün genetik müxtəliflik (GM) əmsalı hesablanmışdır. Genetik müxtəliflik əmsalının səviyyəsi 0.50-0.89 arasında tərəddüd etmiş, ortalama olaraq 0.73 vahid olduğu müəyyən edilmişdir. Genetik müxtəliflik əmsalının ən yüksək qiyməti (0,89) UBC 855 və (0,85) UBC 812, orta qiyməti (0.78) IS 15 və (0,64) UBC 823 praymerlərində, aşağı qiymət isə (0,50) UBC 868 praymerində aşkar olunmuşdur.

Beləliklə, aparılmış tədqiqat işində ISSR markerlərindən istifadə etməklə, alma nümunələrində genetik müxtəliflik tədqiq edilmişdir. Alma kolleksiyasında 5 praymerə görə GM-in yuxarı qiyməti, həm ISSR markerlərin effektivliyindən, həmçinində öyrənilən kolleksiyanın genetik baxımdan çox çeşidli olmasını deməyə əsas verir. Həmçinin, tədqiqatda istifadə olunan ISSR praymerlər arasında ən çox UBC 855, ondan azacıq fərqlənən UBC 812 və IS 15 alma kolleksiyasında polimorfizm-genetik müxtəlifliyin analizi üçün daha effektli hesab edilə bilər.

ƏDƏBİYYAT

1. Aydın U., Serif O., Osman G., Determination of genetic relatedness among Turkish apple germplasm based on ISSR markers// Journal of Applied Botany and Food Quality 89, 82 - 88 (2016), DOI:10.5073/JABFQ.2016.089.010. 2.Fazeli Sh., Sheidai M., Farahani F., Noormohammadi Z. Looking for Genetic Diversity in Iranian Apple Cultivars (Malus × domestica Borkh.). Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 27(3): 205 - 215 (2016). 3.Patzak, J. Identification of Apple Scab and Powdery Mildew Resistance Genes in Czech Apple (Malus x domestica) Genetic Resources by PCR Molecular Markers / F. Paprstein, A. Henychova // Czech J.Genet. Plant Breed. – 2011. – V. 47. – P.156-165. 4.Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalsky A. (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis.Mol. Breed.,2: 225-238. 5.Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant. Mol. Biol., 1985, v.5, p.69-76. 6.Weir B.S. Genetic-data analysis methods for discrete genetic data. USA: MA, Sinauer Assoc Inc, Sunderland, 1990, 337 p.

Молекулярно-генетические исследования местных сортов и диких форм яблони распространенных в различных регионах Азербайджана

А.А.Алиева

Впервые в статье проведена оценка генетического разнообразия-полиморфизма местных сортов и форм яблони, распространенных в разных регионах Азербайджана на основе ДНК-маркеров. Исследовано генетическое разнообразие 45 генотипов яблони с использованием ISSR маркеров. В целом, с применением 5–ти праймеров, было синтезировано 39 ампликонов, из которых 30 оказались полиморфными.

Ключевые слова*: яблоня, генетическое разнообразия, ISSR маркер*

Molecular-genetıc research of local varıetıes and forms of apple dıstrıbuted ın dıfferent regıons of Azerbaıjan

A.A.Alieva

In the article for the first time, the genetic diversity-polymorphism of local varieties and forms apple, spread in different regions of Azerbaijan on the basis of DNA markers, was assessed. The genetic diversity of 45 apple genotypes was studied using ISSR markers. In general, with the use of 5 primers, 39 amplicons were synthesized, of which 30 were polymorphic

Key words*: apple, genetic diversity, ISSR markers*